

## Evolución de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, el agente de la Fusariosis vascular del garbanzo, en razas patogénicas y patotipos

M. M. JIMÉNEZ GASCO, J. A. NAVAS CORTÉS, R. M. JIMÉNEZ DÍAZ

Los cultivares resistentes son la medida de lucha más práctica y económicamente eficiente para el control de enfermedades de cultivos, pero su eficiencia es comprometida por la variabilidad patogénica en las poblaciones de los patógenos. El conocimiento de la historia y potencial evolutivo en la población del patógeno puede ayudar a optimizar la utilización práctica de la resistencia contra aquel, independientemente de la estrategia de mejora genética que se haya empleado para desarrollarla. En este artículo examinamos la diversidad de fenotipos de patogénica y virulencia en *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, el agente causal de la Fusariosis Vascular del garbanzo, analizamos la variabilidad genética que existe en y entre dichos fenotipos, e inferimos una relación filogenética entre las ocho razas patogénicas conocidas de dicho patógeno. La filogenia intra-específica inferida muestra que cada una de estas razas constituye un linaje monofilético, y que la patogénica cultivar-específica de ellas ha sido adquirida en un proceso simple y secuencial con escasas y discretas ganancias o pérdidas de patogénica.

M. M. JIMÉNEZ GASCO Departamento de Patología Vegetal, The Pennsylvania State University; University Park, PA, EE.UU.

J. A. NAVAS CORTÉS. Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, Apartado 4084, 14080 Córdoba.

R. M. JIMÉNEZ DÍAZ. IAS-CSIC y ETSIAM, Universidad de Córdoba, Apartado 3048, 14080 Córdoba.

**Palabras clave:** Garbanzo, *Cicer arietinum*, Fusariosis Vascular, filogenia, variabilidad patogénica, 'fingerprinting' de ADN, genealogía genética, transposones.

### INTRODUCCIÓN

La utilización de cultivares resistentes a los patógenos es una de las estrategias más prácticas y eficientes para el control de enfermedades de plantas, y su uso probablemente se intensificará en los próximos años con la extensión de las nuevas formas de agricultura (i.e., sostenible, ecológica, orgánica, etc.). Sin embargo, la eficiencia de los cultivares resistentes en el control de enfermedades se ve seriamente comprometida por la capacidad evolutiva de los patógenos, que da lugar a que se establezcan en sus poblaciones naturales razas patogénicas (definidas

como biotipos del agente patogénicos sobre cultivares portadores de genes de resistencia específica) y patotipos (definidos como biotipos del agente capaces de causar síndromes de diferente severidad en cultivares de su huésped) capaces de superar la expresión de resistencia en la planta. Durante los casi 100 años transcurridos desde el descubrimiento de la resistencia genética a patógenos en plantas y las razas patogénicas de éstos, agrónomos, fitopatólogos y genetistas han sido testigos de la 'superación' (anulación) de la resistencia completa conferida por genes en la planta que exhiben una relación gen-a-gen con los genes de virulencia del patógeno (FLOR,

1971), así como de la ‘erosión’ (más que anulación) de la resistencia parcial regulada cuantitativamente, que no exhibe dicha relación gen-a-gen y tiende a ser efectiva de manera inespecífica (FLIER *et al.*, 2003;

JOHNSON, 1983). En ambos casos, ‘supera- ción’ y ‘erosión’ de las resistencias son consecuencia de la selección direccional de las variantes patogénicas mejor adaptadas en las poblaciones de los patógenos, que es favore-

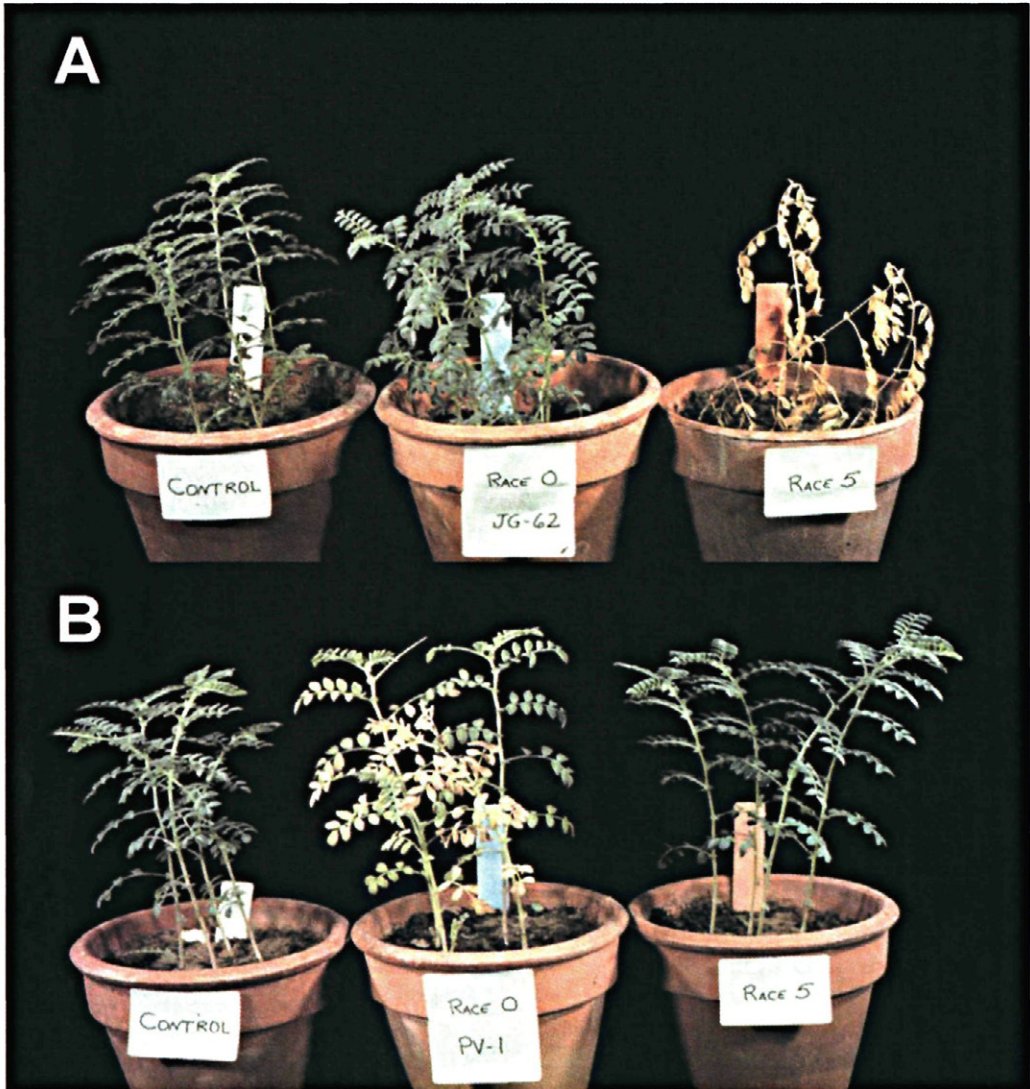


Figura 1. (A) Reacción de la línea PV 1 de garbanzo a la inoculación con las razas 0 (centro) y 5 (derecha) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. A la izquierda las plantas testigo no inoculadas. Nótese el amarilleamiento progresivo causado por la raza 0, característico del patotipo de Amarillez. (B) Reacción del cv. JG 62 de garbanzo a la inoculación con las razas 0 (centro) y 5 (derecha) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. A la izquierda las plantas testigo no inoculadas. Nótese la flacidez y muerte causadas por la raza 5, características del patotipo de Marchitez.

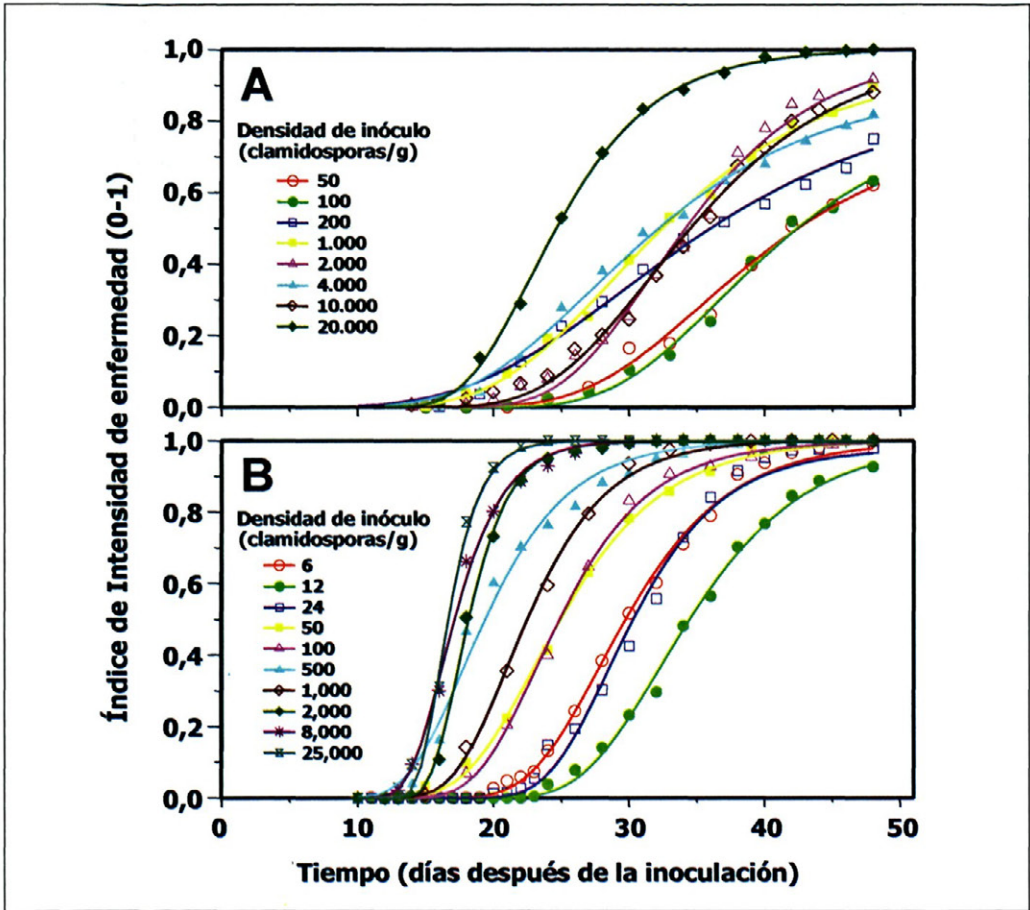


Figura 2. Curva de incremento en el tiempo de un índice de intensidad de Fusariosis Vascular en el cv. P 2245 de garbanzo desarrollado en suelo infestado con diferentes densidades de inóculo de las razas 0 (A) y 5 (B) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Cada punto es media de los valores calculados con datos de cuatro bloques al azar de 12 plantas cada uno. La línea continua representa la curva de incremento de enfermedad calculada por regresión no lineal de los datos experimentales al modelo de Gompertz.

cida por el monocultivo y la uniformidad genética que prevalecen en la agricultura moderna (BROWN, 1995).

Recientemente, MACDONALD y LINDE (2002) han puesto énfasis en señalar que la utilización óptima y eficiente de la resistencia en cultivares de plantas requiere conocimiento previo respecto de la historia y potencial evolutivo de la población del patógeno (cuya estructura de virulencia es a menudo desestimada en el proceso de desarrollo de

resistencias), independientemente de las estrategias que se utilicen para desarrollar los cultivares resistentes (i.e., mejora genética convencional, o ingeniería genética). Además, dichos autores han propuesto que el potencial evolutivo de un patógeno se refleja en la estructura genética de sus poblaciones, de manera que el conocimiento de ésta permite realizar inferencias sobre dicho potencial y tomar decisiones para optimizar la utilización de genes de resistencia al patógeno

para el control de la enfermedad. En este artículo presentamos un análisis de la diversidad genética que existe en las razas y patotipos que componen las poblaciones de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, el agente causal de la Fusariosis Vascular del garbanzo (TRAPERO-CASAS y JIMÉNEZ-DÍAZ, 1985), e inferimos relaciones evolutivas entre ellos.

### Fenotipos de patogenicidad y virulencia en *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* es un hongo que habita el suelo y está patogénicamente especializado sobre especies de *Cicer* (KAISER *et al.*, 1994), en cuyas poblaciones pueden distinguirse dos patotipos (denominados de Amarillez y Marchitez) que difieren en virulencia (definida por la cantidad de enfermedad que pueden causar en un cultivar del huésped), y ocho razas patogénicas (razas 0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5, y 6) que pueden ser identificadas por la reacción que determinan en un conjunto de cultivares y líneas diferenciadoras raciales (HAWARE y NENE, 1982; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1993). De las ocho razas, seis (razas 1A, 2, 3, 4, 5 y 6) causan el síndrome de Marchitez (clorosis y flacidez rápida de tejidos aéreos y coloración castaño-oscura del tejido vascular y medular) y dos (razas 0 y 1B/C) causan el síndrome de Amarillez (amarilleamiento progresivo, defoliación y coloración vascular y medular) (Figura 1); y las ocho razas tienen una distribución geográfica distintiva. Esto es, las razas 2, 3, y 4 sólo han sido diagnosticadas en la India hasta ahora (HAWARE y NENE, 1982), mientras que las razas 0, 1B/C, 5 y 6 se han encontrado principalmente en la Cuenca Mediterránea y California (HALILA y STRANGE, 1996; JIMÉNEZ-DÍAZ, *et al.*, 1993; JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001). A diferencia de las otras razas, la raza 1A está extensamente distribuida en California, la Cuenca Mediterránea, y la India (Haware y Nene, 1982; Jiménez-Gasco *et al.*, 2001).

Además de diferir en patogenicidad (i.e., capacidad inherente en un agente microbiano de causar enfermedad en genotipos de la especie vegetal susceptible), las razas de *F.*

*oxysporum* f. sp. *ciceris* también manifiestan distinta virulencia, de manera que difieren en la cantidad de inóculo necesaria para causar enfermedad severa en un cultivar de garbanzo susceptible. Así, a 25°C, temperatura óptima para el desarrollo de la Fusariosis Vascular, bastaron 6-50 clamidosporas/g de suelo de la raza 5 para causar una reacción severa en el cv. P 2245 pero fueron necesarias 20.000 clamidosporas/g de suelo de la raza 0 para causar igual cantidad de enfermedad en el mismo cultivar (Figuras 2A y 2B) (NAVAS-CORTÉS *et al.*, 2000). Asimismo, cuando la virulencia de la raza 1B/C (patotipo de Amarillez) se comparó con la de las razas 1A y 5 (patotipo de Marchitez) en el cv. PV 61 (resistente a la raza 0), la máxima cantidad de enfermedad se alcanzó con 1.000 clamidosporas/g de suelo de la raza 5 y 5.000 clamidosporas/g de suelo de la raza 1A, pero con 5.000 clamidosporas/g de suelo de la raza 1B/C se desarrolló una cantidad de enfermedad equivalente a la producida por 1.000 clamidosporas/g de suelo de la raza 1A (Figura 3). Es interesante resaltar que tales diferencias en virulencia entre las razas 0, 1 y 1B/C, indicadas por las relaciones cuantitativas entre cantidad de inóculo y cantidad de enfermedad que éste promueve en un cultivar susceptible de garbanzo, van asociadas a diferencias mínimas en la patogenicidad que dichas razas expresan en los cultivares diferenciadores raciales; esto es, las razas 0 y 1B/C comparten el patotipo (Amarillez) pero son diferencialmente patogénicas en 'JG 62', mientras que las razas 1B/C y 1A pertenecen a diferentes patotipos y son moderada (raza 1B/C) o altamente virulentas sobre el cv. C 104 (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2004).

En conclusión, de lo anterior parece deducirse que en conjunto el patotipo de Amarillez de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* es menos virulento que el de Marchitez, pero que también pueden existir diferencias en virulencia entre razas de un mismo patotipo.

### Patrón evolutivo en *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

La forma especial *ciceris* es una de las más de un centenar de poblaciones patogéni-

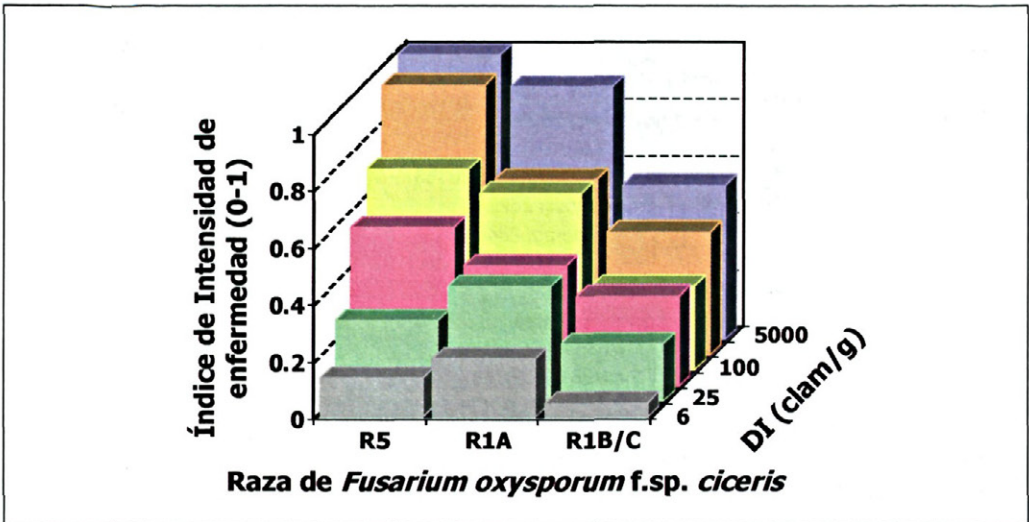


Figura 3. Histograma del índice de intensidad final de Fusariosis Vascular en el cv. PV 61 de garbanzo desarrollado en suelo infestado con diferentes densidades de inóculo de las razas 1A, 1B/C y 5 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Cada barra es media de los valores calculados con datos de cuatro bloques al azar de 12 plantas cada uno 48 días después de la inoculación.

camente especializadas que, junto con una rica diversidad de grupos no-patogénicos pero invasores del cortex radical de plantas, componen a *Fusarium oxysporum*, una especie fúngica compleja, habitante tanto de suelos cultivados como naturales, para la que no se conoce forma de reproducción sexual. La obligada reproducción asexual impide la recombinación genética entre los miembros de la especie, y da lugar a que la variación genética en ellos deba resultar principalmente de la acumulación de mutaciones y a que sus poblaciones tengan una estructura clonal. En *F. oxysporum*, dicha estructura se ha asociado con la denominada 'compatibilidad vegetativa', esto es, la capacidad de los miembros de la especie de establecer heterocariotes (citoplasmas conteniendo núcleos genéticamente diferentes) estables mediante la fusión continuada de micelios homocarióticos adyacentes (GORDON y MARTIN, 1997; KISTLER, 1997; KLEIN y CORRELL, 2001); de manera que los miembros intercompatibles de la especie pertenecen a un mismo Grupo de Compatibilidad Vegetativa (VCG) y están

genéticamente aislados de los que pertenecen a otros VCGs por los mecanismos de incompatibilidad.

El proceso por el que se haya podido establecer la referida estructura clonal en una forma especial de *F. oxysporum* a lo largo de su historia evolutiva no es único, de manera que algunas formas especiales (p.ej., *albedinis*, *canariensis*, *conglutinans*) han evolucionado hacia el patogenismo una sola vez y son por lo tanto monofiléticas (BAAYEN *et al.*, 2000; KISTLER, 2001), mientras que otras (p.ej., *cubense*, *lycopersici*, *melonis*) han adquirido dicha capacidad en eventos múltiples e independientes y son en consecuencia polifiléticas (BAAYEN *et al.*, 2000; O'DONNELL *et al.*, 1998).

El que una determinada forma especial de *F. oxysporum* tenga origen monofilético o polifilético tiene obvias consecuencias directas sobre las estrategias de desarrollo y utilización de la resistencia al patógeno para el control de la enfermedad, porque historias evolutivas distintas en lugares geográficamente distantes, confieren incertidumbre al

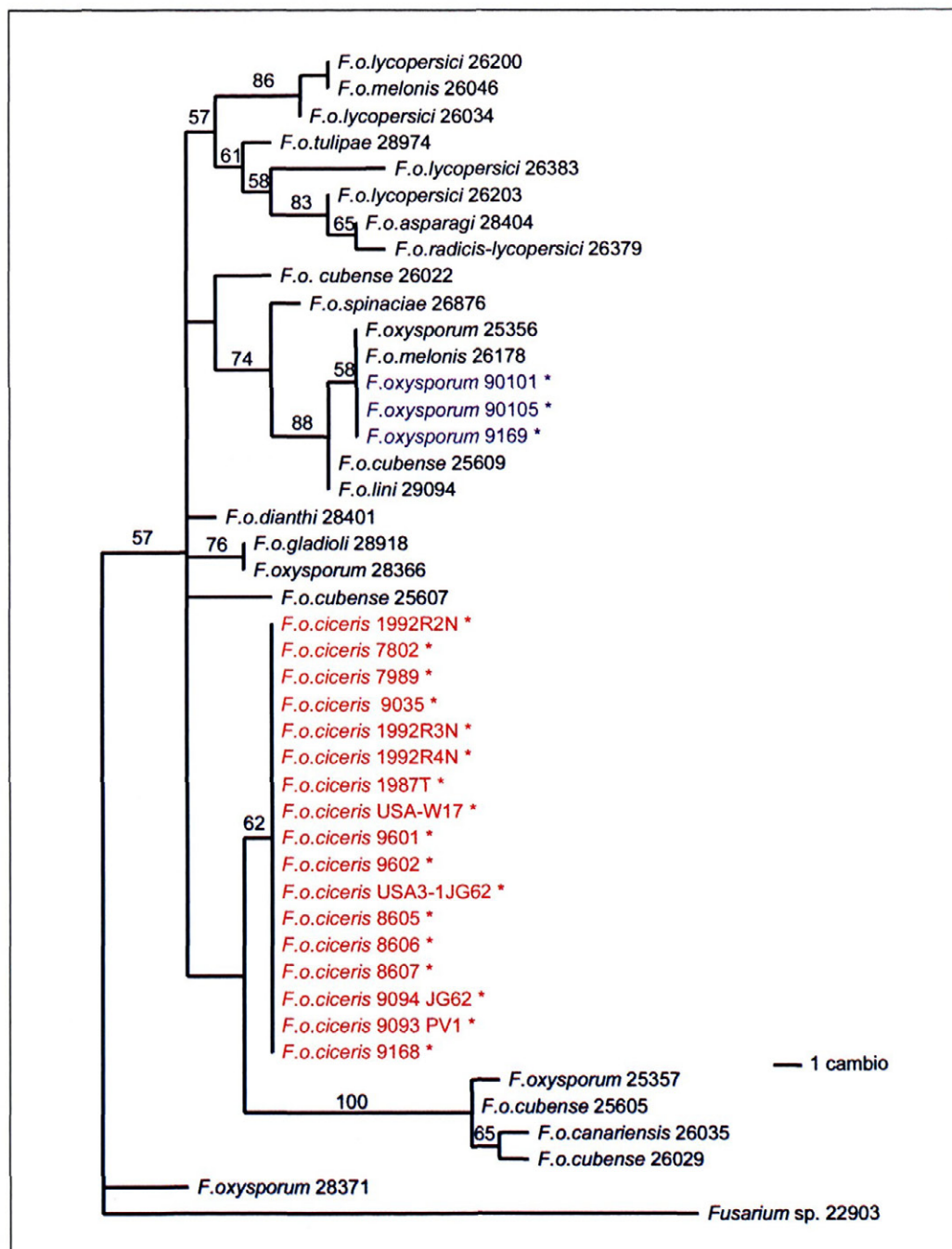


Figura 4. Genealogía del gen factor de elongación 1 $\alpha$  (EF1 $\alpha$ ) que demuestra la monofilia en *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. La figura muestra uno de los tres árboles de máxima parsimonia obtenidos. Los asteriscos indican las secuencias de las cepas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (en rojo) y de *F. oxysporum* no patógeno de garbanzo (en azul) comparadas con las de cepas de otras formas especiales disponibles en el GenBank.

empleo con éxito de un cultivar desarrollado contra las poblaciones del patógeno que predominan en un área evolutiva cuando se usan en áreas evolutivas diferentes. En el caso de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, la notable diversidad fenotípica y geográfica observada sugirió la posibilidad de que pudiera ser polifilética. Sin embargo, diversos estudios utilizando una amplia muestra de cepas del hongo representativas de los varios patotipos, razas, y orígenes geográficos, indicaron que éstas son genéticamente idénticas en términos de VCG (NOGALES MONCADA, 1997) y de las secuencias de cinco genes altamente conservados en hongos (factor de elongación 1 $\alpha$  (EF1 $\alpha$ ),  $\alpha$ -tubulina, histona 3, actina y calmodulina). Además, la comparación mediante análisis de parsimonia de las secuencias del gen EF1 $\alpha$  en la amplia muestra de cepas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, con las de miembros representativos de otras 11 formas especiales de *F. oxysporum*, agrupó a las cepas de la forma especial *ciceris* de forma distintiva respecto de las de otras formas especiales de dicha especie y de cepas no-patogénicas de ella (Figura 4) (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2002).

Considerada en su conjunto, la información anterior indica que *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* es de origen monofilético; y la interpretación más simple que puede derivarse de ella es que este patógeno procede de una pequeña población fundadora de *F. oxysporum* que en el pasado adquirió patogenicidad sobre especies de *Cicer*, y que la variación en los fenotipos de patogenicidad y virulencia que la caracterizan hoy debe haberse producido por la acumulación de cambios genéticos relativamente recientes, que han debido tener lugar con posterioridad a la evolución de la forma especial *ciceris* y en áreas de cultivo del huésped geográficamente aisladas (GORDON y MARTIN, 1997; JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001).

**Variabilidad genética intra e inter razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*: Inferencia filogenética de las razas del patógeno**

El patrón evolutivo de la variación patogénica en *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* se investigó mediante hibridaciones del ADN genómico de 36 cepas del patógeno representativas de todos los patotipos, razas y orígenes geográficos, y tres de *F. oxysporum* no patogénicas de garbanzo, utilizando como sondas tres secuencias de ADN repetitivo en *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* que presentan similitud con transposones fúngicos; y los 88 fragmentos de ADN identificados en la hibridación de todas las cepas fúngicas con las tres sondas se sometieron a análisis fenético por medio de UPGMA, y análisis cladístico utilizando PAUP\* 4.0b4a y el método 'neighbor-joining'.

El análisis UPGMA distinguió nítidamente las cepas patogénicas de las no-patogénicas, y separó a las de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* en dos grandes grupos que se correlacionan con los patotipos de Amarillez y Marchitez; a su vez, dichos grupos principales se diferenciaron en sub-grupos, de manera que las cepas incluidas en cada uno de ellos corresponden a una raza determinada (datos no mostrados). Además, el análisis de similitud en el perfil de hibridación de cepas de una raza, calculado con el coeficiente de Jaccard, indicó diversidad en dicha similitud siendo la raza 0 la más diversa (similitud promedio entre cepas del 64%) y la raza 5 la más homogénea (similitud promedio entre cepas del 93%).

El análisis cladístico reprodujo el patrón de agrupamientos de las cepas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* obtenido con el análisis fenético UPGMA (Figura 5), de manera que las cepas patogénicas constituyeron una clade claramente diferenciada de las cepas no-patogénicas de garbanzo. Similarmente, las cepas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* constituyeron dos clades claramente correlacionadas con los dos patotipos de Amarillez y Marchitez mencionados, así como linajes clonales que correspondieron a cada una de las razas (Figura 5). Sin embargo, en ninguno de los análisis anteriores existió asociación alguna entre los patrones de agrupación o clades y la procedencia geográfica de

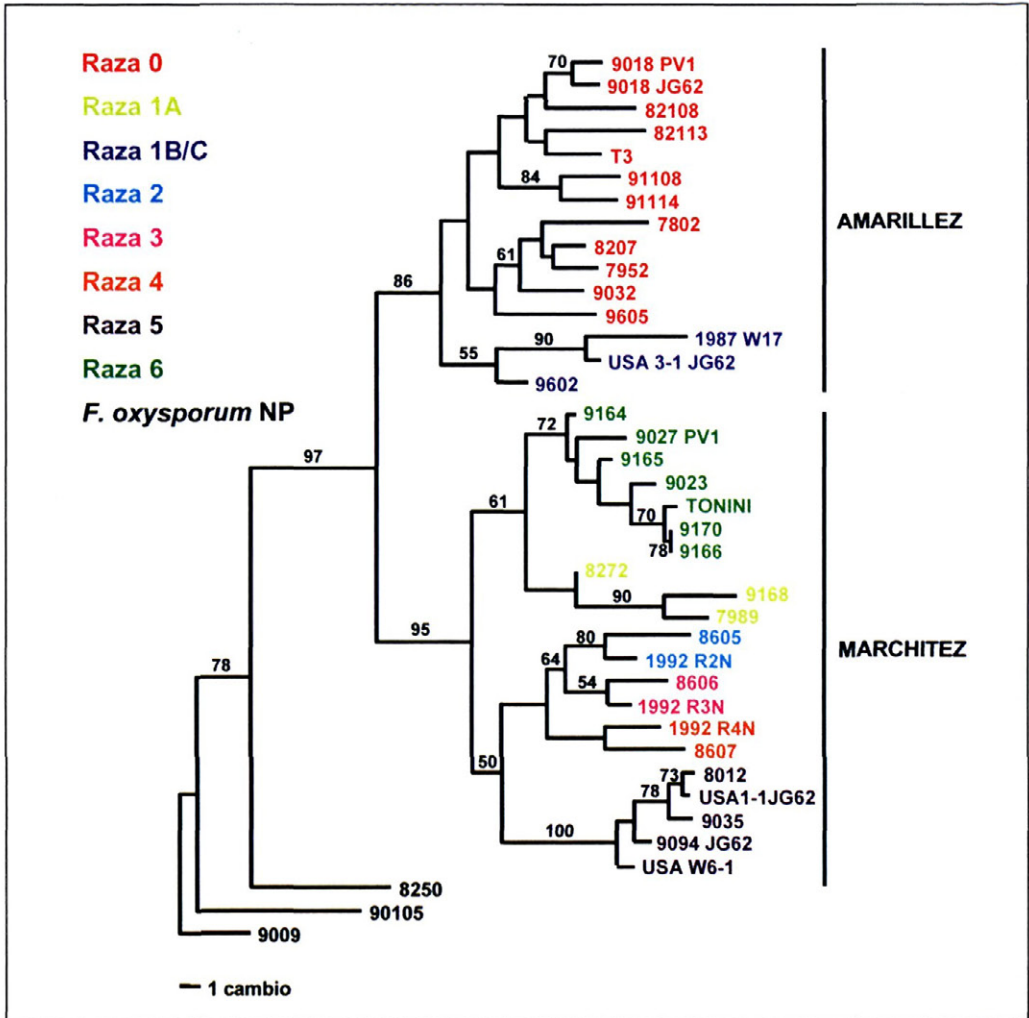


Figura 5. Filogenia de las razas patógenas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferidas en base al análisis 'neighbor-joining' de los perfiles de hibridación del ADN genómico de 36 cepas del patógeno y tres de *F. oxysporum* no patógeno de garbanzo utilizando como sondas tres secuencias de ADN repetitivo en *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*.

las cepas, excepto por las de las razas 2, 3 y 4 que hasta ahora han sido descritas en la India únicamente.

Las varias líneas de evidencia referidas hasta ahora indican que la raza 0, que causa el síndrome de Amarillez, es posiblemente la más antigua de las razas del patógeno y antepasada de las razas que causan Marchitez. En primer lugar, la raza 0 es la menos pato-

génica de las razas descritas, indicado por el menor número de líneas diferenciadoras raciales que puede atacar comparado con otras razas, así como la menos virulenta sobre cultivares susceptibles, y es la más ampliamente distribuida en la Cuenca Mediterránea (aunque no ha sido descrita en la India) (HALILA y STRANGE, 1996; HAWARE y NENE, 1982; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1993;



JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001). En segundo lugar, la probable evolución de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* a partir de poblaciones o individuos parasíticos pero no patogénicos (i.e., capaces de establecer infección en la planta pero no de causar enfermedad en ella), que indica el origen monofilético del patógeno (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2002), sugiere que la raza más antigua de aquél sea patogénica sobre menor número de cultivares resistentes que las desarrolladas más recientemente. Además, puesto que la variación genética en un hongo de reproducción estrictamente asexual, como es *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, resulta principalmente de la acumulación de mutaciones en el curso del tiempo, es de esperar que este proceso genere más diversidad en la raza más antigua, i.e., la raza 0, comparada con las más recientes como la raza 5, que es la menos diversa en perfiles RAPD (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001) y de hibridación (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2004) y la más patogénica y virulenta de las identificadas en la Cuenca Mediterránea. Según esta hipótesis, la raza 1B/C es la evolutivamente más cercana a la raza 0, con la cual comparte el síndrome de Amarillez y muestra patrones de patogenicidad y diversidad genética muy similares (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1993; JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001, 2004).

#### **Evolución de las razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* mediante un proceso secuencial en la ganancia de patogenicidad**

En una reciente revisión bibliográfica sobre la biología de *F. oxysporum*, GORDON y MARTIN (1997) postularon que en una forma especial monofilética de este hongo las razas patogénicas que mantuvieran una estrecha relación filogenética derivarían una de otra, en un proceso secuencial de pasos discretos, más que de manera independiente. El análisis filogenético de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ha facilitado contrastar esta hipótesis y demostrar por primera vez que las razas de este patógeno han evolucionado siguiendo dicho proceso secuencial y discreto (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2004). A tal fin, la

patogenicidad cultivar-específica de las razas sobre cada uno de los cultivares o líneas diferenciadoras raciales se superpuso (no mostrado) sobre el árbol filogenético inferido de los linajes clonales raciales (Figura 5), a fin de minimizar el número de cambios necesarios y de inferir los dos escenarios evolutivos más simples posibles: a) considerando solamente que tiene lugar ganancia (pero no pérdida) de patogenicidad sobre cultivares resistentes, y b) admitiendo que se pudo producir tanto ganancia como pérdida de dicha patogenicidad (JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2004).

El primer escenario de dicho supuesto es coherente con la filogenia de las razas del patógeno discutida anteriormente, en la que la raza 0 es antepasada de las razas que causan Marchitez, y postula que han podido tener lugar al menos tres eventos paralelos de ganancia de patogenicidad y la existencia de tres antepasados raciales que nunca han sido observados. En este caso, la primera adquisición de patogenicidad a partir de la raza más antigua y desconocida habría dado lugar a la raza 0, y posteriormente a partir de dicha raza habrían evolucionado la raza 1B/C causante de Amarillez; subsiguientemente, las razas causantes de Marchitez habrían evolucionado en un proceso secuencial y discreto a partir de una segunda raza primigenia desconocida. Comparativamente, el segundo escenario inferido en el estudio es más simple que el anterior, de manera que propone a la raza 1A causante de Marchitez como la antepasada común a todas las demás razas, en lugar de una raza desconocida como propone el primer escenario. Consistente con este escenario de primigenia de la raza 1A es el que ésta sea la más extensamente distribuida de todas las razas, incluyendo la Cuenca Mediterránea, California e India (HAWARE y NENE, 1982; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1994).

La historia en el desarrollo y utilización de cultivares de garbanzo resistentes a razas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, no parece auspiciar que la evolución secuencial y discreta de las razas del patógeno descrita anterior-

mente sea resultado de la selección por parte de resistencias específicas en los cultivares de garbanzo. En efecto, de una parte la amplia distribución de algunas razas determina que existan incluso en áreas geográficas donde no se han empleado cultivares resistentes, como es el caso de la Cuenca Mediterránea, donde se ha descrito la mayor diversidad racial del patógeno (HALILA Y STRANGE, 1996; JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1993; JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001, 2003); por otra parte, la utilización extensa de cultivares resistentes a la raza 1A en la India no ha dado lugar aparentemente a que se haya producido desarrollo de la raza 6, que deriva de la raza 1A y es patogénicamente específica sobre los cultivares resistentes a la raza 1A (JIMÉNEZ-DÍAZ *et al.*, 1993; JIMÉNEZ-GASCO *et al.*, 2001). Por el contrario, las razas 2, 3, y 4, que son patogénicas sobre los cultivares resistentes a la raza 1A (HAWARE y NENE, 1982), fueron identificadas en la India antes

de que dichos cultivares fueran desarrollados y se extendiera su utilización (KUMAR *et al.*, 1985). Así, a diferencia de otros patosistemas (p. ej., Mildius, Oídios, Royas, etc.), puede haber habido escasa o nula selección a favor de razas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* que superen las resistencias utilizadas, minimizando las probabilidades de que se produzcan cambios en la estructura de patogenicidad y virulencia de las poblaciones del patógeno que comprometen la durabilidad de los cultivares resistentes (MACDONALD y LINDE, 2002), como es el caso de patosistemas como los citados.

## AGRADECIMIENTOS

Las investigaciones de los autores que se mencionan en este artículo fueron subvencionadas por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica a través de los proyectos AGF97-1479 y AGF98-0878.

## ABSTRACT

JIMÉNEZ GASCO M. M., J. A. NAVAS CORTÉS, R. M. JIMÉNEZ DÍAZ. 2005. Phylogenetic analysis of the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*/*Cicer arietinum* pathosystem into races and pathotypes. *Bol. San. Veg. Plagas*, 31: 59-69.

Resistant cultivars are the most practical and cost efficient plant disease control measure, but their efficacy in disease control is limited by pathogenic variability in pathogen populations. Management of disease resistance genes can be optimized by knowledge of the evolutionary history and potential of the pathogen population, irrespective of the breeding strategy used for resistance development. In this review, we examine the diversity in virulence phenotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the causal agent of Fusarium wilt of chickpeas. Also, we analyze the genetic variability existing within and among those phenotypes, and infer a phylogenetic relationship among the eight known pathogenic races of this fungus. The inferred intraspecific phylogeny shows that each of those races forms a monophyletic lineage. Furthermore, virulence of *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* races to resistant chickpea cultivars has been acquired in a simple stepwise pattern, with few parallel gains or losses.

**Key words:** Chickpea, *Cicer arietinum*, Fusarium wilt, phylogeny, pathogenic variability, DNA fingerprinting, gene genealogy, transposons.

REFERENCIAS

- BAAYEN, R.P., O'DONNELL, K., BONANTS, P.I.M., CIGELNIK, E., KROON, L.P.N.M., ROEBROECK, E.J.A., y WAALWIJK, C. 2000. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, **90**: 891-900.
- BROWN, I.K.M. 1995. Pathogen's responses to the management of disease resistance genes. En: *Advances in Plant Pathology* vol. 11. Andrews, J.H., y Tommerup, I.C. (eds) Academic Press, NY, EE.UU., pp 75-102.
- FLIER, W.G., VAN DEN BOSCH, G.B.M., y TURKENSTEEN, L.J. 2003. Stability of partial resistance in potato cultivars exposed to aggressive strains of *Phytophthora infestans*. *Plant Disease*, **52**: 326-337.
- FLOR, H.H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, **9**: 275-296.
- GORDON, T.R., y MARTYN, R.D. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*, **35**: 111-128.
- HALILA, H.M., y STRANGE, R.N. 1996. Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 0. *Phytopathologia Mediterranea*, **35**: 67-74.
- HAWARE, M.P., y NENE, Y.L. 1982. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease*, **66**: 809-810.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M., ALCALÁ-JIMÉNEZ, A.R., HERVÁS, A., y TRAPERO-CASAS, J.L. 1993. Pathogenic variability and hosts resistance in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* / *Cicer arietinum* pathosystem. En: Proc. 3<sup>rd</sup> Eur. Semin. *Fusarium* Mycotoxins, Taxonomy, Pathogenicity and Host Resistance. Hodowla Röllin Aklimatyzacja i Nasiennictwo. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzików, Polonia, pp 87-94.
- JIMÉNEZ-GASCO, M.M., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2003. Development of a specific PCR-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5, and 6. *Phytopathology*, **93**: 200-209.
- JIMÉNEZ-GASCO, M.M., PÉREZ-ARTÉS, E., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2001. Identification of pathogenic races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with random amplified polymorphic DNA (RAPD). *European Journal of Plant Pathology*, **107**: 237-248.
- JIMÉNEZ-GASCO, M.M., MILGROOM, M.G., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2002. Gene genealogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* as a monophyletic group. *Plant Pathology*, **51**: 72-77.
- JIMÉNEZ-GASCO, M.M., MILGROOM, M.G., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2004. Stepwise evolution in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. *Phytopathology*, **94**: 228-235.
- JOHNSON, R. 1983. Genetic background of durable resistance. En: Lamberti, F., Waller, J.M., y Van Der Graaf, N.A. (eds.). *Durable Resistance in Crops*. NATO ASI Series A., Life Sciences. Plenum Press, NY, EE.UU., pp 5-26.
- KAISER, W.J., ALCALÁ-JIMÉNEZ, A.R., HERVÁS-VARGAS, A., TRAPERO-CASAS, J.L., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 1994. Screening of wild *Cicer* species for resistance to races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease*, **78**: 962-967.
- KISTLER, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, **87**: 474-479.
- KISTLER, H.C. 2001. Evolution of host specificity in *Fusarium oxysporum*. En: Summerell, B.A., Leslie, J.F., Beckhouse, D., Bryden, W.L., y Burgess, L.W. (eds) *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium APS Press, St Paul, MN, EE.UU., pp 70-82.
- KLEIN, K.K., y CORRELL, J.C. 2001. Vegetative compatibility group diversity. En: Summerell, B.A., Leslie, J.F., Beckhouse, D., Bryden, W.L., y Burgess, L.W. (eds) *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St Paul, MN, EE.UU., pp 83-96.
- KUMAR, J., HAWARE, M.P., y SMITHSON, J.B. 1985. Registration of four short duration *Fusarium* wilt-resistant kabuli (garbanzo) chickpea germplasm. *Crop Science*, **25**: 576-577.
- MACDONALD, B.A., y LINDE, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **40**: 349-379.
- NAVAS-CORTÉS, J.A., ALCALÁ-JIMÉNEZ, A.R., HAU, B., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2000. Influence of inoculum density of races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, **106**: 135-146.
- NOGALES-MONCADA, A.M. 1997. Compatibilidad Vegetativa en *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, Agentes, Respectivamente, de la Fusariosis Vasculares del Garbanzo y del Melón. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, 216 pp.
- O'DONNELL, K., KISTLER, H.C., CIGELNIK, E., y PLOETZ, R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**: 2044-2049.
- TRAPERO-CASAS, A., y JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*, **75**: 1146-11.

(Recepción: 28 abril 2004)  
(Aceptación: 10 diciembre 2004)